

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1970

THÈSE

N°

274

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Dominique-Marie TANCÈRE, née HEURGON

Née le 28 Mai 1938, à ORLÉANS (45)

Présentée et soutenue publiquement le

**ETUDE IN VITRO DE L'EFFET BACTERICIDE
DE L'ASSOCIATION
GANTANOL-TRIMETHOPRIME
SUR 58 SOUCHES HOSPITALIÈRES**

Président : M. CHRISTOL, Professeur

PARIS

Librairie ARNETTE

2, Rue Casimir-Delavigne, 2

1970

ANNÉE 1970

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PRÉSENTÉE PAR

Dominique-Marie TANCRÈDE, née HEURGON

Née le 28 Mai 1938, à ORLÉANS (45)

Présentée et soutenue publiquement le

ETUDE IN VITRO DE L'EFFET BACTERICIDE DE L'ASSOCIATION GANTANOL-TRIMETHOPRIME SUR 58 SOUCHES HOSPITALIERES

Président : M. CHRISTOL, Professeur

PARIS

Librairie ARNETTE
2, Rue Casimir-Delavigne, 2

1970



A MON MARI

Interne des hôpitaux de Paris

Je le remercie pour son aide et
pour ses critiques.

A MES PARENTS

En témoignage d'affection.

A MES ENFANTS



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549002_0047

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CHRISTOL

Chaire de microbiologie de l'Hôpital Claude Bernard

Qui nous fit l'honneur de présider cette thèse, avec toute notre reconnaissance et notre respect.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LESUEUR
Chef de Service à l'Hôpital Civil de Versailles

Avec tous nos remerciements
pour l'enseignement qu'il nous dispensa au cours de nos études.

A MONSIEUR LE DOCTEUR BECK

Assistant des hôpitaux de Paris

*Directeur du département de recherches
des Produits Roche*

Qui nous a permis ce travail.
Qu'il soit assuré de toute notre
reconnaissance.

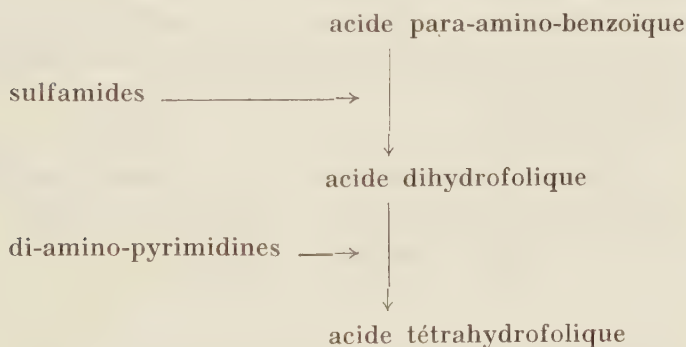
A MONSIEUR LE DOCTEUR PECHERE

Chef de clinique-assistant à l'Hôpital Claude Bernard

En l'assurant de notre fidèle
amitié et de notre reconnaissance
pour ses précieux conseils.

INTRODUCTION

Les di-amino-pyrimidines ont une action anti-bactérienne connue depuis longtemps [1]. Elles agissent sur le métabolisme de l'acide folique en inhibant l'action de la réductase qui permet le passage de l'acide dihydrofolique à l'acide tétrahydrofolique [2, 10]. Cette action est très voisine de celle des sulfamides qui s'exerce au stade précédent, inhibant la transformation de l'acide para-amino-benzoïque en acide dihydrofolique [6] :



Il n'était donc pas illogique de penser que l'association di-amino-pyrimidines - sulfamides puisse donner une meilleure action anti-bactérienne [18, 19]. Mais la mauvaise tolérance aux di-amino-pyrimidines semblait en interdire l'emploi en clinique jusqu'à

l'étude approfondie de la (2,4-diamino-5-(3'-4'-5'-trimethoxybenzyl)-pyrimidine) ou Triméthoprine (T) mieux tolérée et présentant un pouvoir anti-infectieux satisfaisant sur un grand nombre d'espèces microbiennes et sur certains protozoaires [3, 5, 13, 20].

Le sulfaméthoxazole (S) ou Gantanol a été choisi en raison de sa diffusion et de son élimination qui sont voisines de celles de la Triméthoprine.

L'association des deux produits (T + S) a déjà fait l'objet d'études in vitro et in vivo par différents auteurs [4, 12, 14, 15, 16, 17, 20].

Pour nous, nous avons voulu étudier plus particulièrement les propriétés bactéricides des deux drogues associées, les études précédentes n'en faisant guère état. Cette question nous semble pourtant très importante, une chimiothérapie récente ne trouvant vraiment sa place en pathologie infectieuse que si elle assure une bactéricidie suffisante vis-à-vis des germes pathogènes habituels.

Nous avons également essayé de déterminer si la synergie de la Triméthoprine et du Sulfaméthoxazol, maintes fois signalée, s'exprimait aussi par une augmentation de la bactéricidie.

MATERIEL ET METHODE

1. — Les souches microbiennes

Notre étude a porté sur 58 souches microbiennes : 2 germes de référence, *Staphylococcus aureus* 209 P et *Escherichia coli* K 12 sauvage, et 56 bactéries isolées durant le premier semestre 1968 à l'Hôpital Claude Bernard ou à l'Hôpital Saint-Vincent-de-Paul à Paris.

Tous ces microbes ont été prélevés chez des malades hospitalisés ; ils étaient considérés comme responsables de syndromes cliniques patents (septicémies, pneumonies, infections urinaires, pyodermites). La plupart de ces microbes sont polyrésistants (Tableau N° 1).

2. — L'association médicamenteuse

La Triméthoprine et le Gantanol utilisés dans la présente étude provenaient des Laboratoires « ROCHE ». Chacune de ces médications était présentée en poudre stérile (produit pratiquement pur). Les solutions médicamenteuses ont été préparées en eau distillée à partir d'une solution-mère, elle-même

solubilisée en eau distillée tiède (36°). Les dilutions choisies de Triméthoprime et de Gantanol sont mélangées dans des proportions variables.

3. — Le milieu de culture

Le milieu de cultures est le milieu semi-synthétique de Duchenne. Ce milieu liquide, choisi parce qu'il n'entraîne pas de modification de l'activité des produits testés, comporte plusieurs solutions que l'on prépare comme suit :

a) *Solution de base :*

— milieu de casamino sans vitamines, Difco	20 g
— cystéine	150 mg
— tryptophane	20 mg
— Kcl	3 g
— $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$	7,5 g
— $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,5 g
— eau distillée	450 ml

Ajuster le pH à 7,5.

b) *Solution 1 :*

— biotine	15 mg
— acide nicotinique	15 mg
— pyridoxine	15 mg
— pantothénate de calcium	60 mg
— aneurine	15 mg
— riboflavine	7 mg
— adénine	150 mg
— uracile	150 mg

Ces substances sont dissoutes dans 100 ml d'eau distillée et la solution est stérilisée par filtration.

c) *Solution 2 :*

— FeSO_4	50 mg
— CuSO_4	50 mg
— ZnSO_4	50 mg
— MnCl_2	20 mg
— HCl concentré	1 ml

Les sels minéraux sont dissous dans 100 ml d'eau distillée et la solution est stérilisée par ébullition.

d) *On a, ensuite, mesuré et pesé :*

— Solution 1	8 ml
— Solution 2	2 ml
— 20 % de glucose stérile	10 ml
— glutamine	200 mg
— asparagine	100 mg
— choline	10 mg
— $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	10 mg
— Eau distillée	50 ml

La solution est stérilisée par filtration. Le milieu définitif, prêt à l'usage, est alors préparé par addition de 10 ml de cette solution à 90 ml de la solution de base.

4. — Préparation des inoculums

La souche que l'on désire étudier estensemencée dans le milieu de Duchenne. Après 24 heures de culture, on procède à une dilution en eau distillée, de telle sorte que l'inoculum soit d'environ 10^5 germes/ml. Cette suspension est soigneusement dénombrée comme il est dit plus loin.

5. — Préparation des tubes

L'étude a été effectuée dans des tubes à hémolyse. Ces tubes contiennent un volume de 1 ml réparti comme suit :

— milieu de Duchenne	0,4 ml
— inoculum	0,1 ml
— solution médicamenteuse	0,5 ml

Les tubes sont placés à l'étuve à 37° pendant 18 heures. On procède, alors, à une numération des germes survivants dans chacun d'entre eux.

6. — Numération des bactéries

Pour connaître le nombre de bactéries vivantes dans l'inoculum ou dans les tubes après 18 heures de contact avec les solutions médicamenteuses, on procède à desensemencements de 1/10 de ml sur une boîte de Pétri contenant de la gélose trypticase soja Mérieux. Ces germes sont très soigneusement étalés à la surface du milieu solide, puis étuvés à 37° pendant 24 heures. Lorsque l'on estime que le nombre de germes sur la boîte sera supérieur à 1.000, on procède à une dilution préalable afin que les colonies soient facilement comptables. Il reste, en effet, à dénombrer le nombre de colonies et à en déduire le chiffre cherché.

7. — Etude du pouvoir bactéricide

Pour chacune des souches étudiées, 17 tubes sont ensemencés. Le premier ne contient pas de solution médicamenteuse et sert de témoin. Dans les huit suivants on met une solution médicamenteuse dont la quantité totale s'échelonne de 1 à 128 $\mu\text{g/ml}$ avec une proportion relative de Triméthoprine et de Gantanol de 1 pour 5. Dans les huit derniers tubes, enfin, les mêmes quantités de solution médicamenteuse sont placées mais cette fois dans la proportion relative des constituants Triméthoprine et Gantanol de 1 pour 10.

8. — Appréciation de la synergie des deux constituants Triméthoprine et Gantanol

Pour chaque souche étudiée, 81 tubes sont cette fois nécessaires. Ils sont placés dans un portoir en carré de neuf tubes de côté. On place dans chacun des tubes une quantité variable de Triméthoprine et de Gantanol. Ainsi, dans chaque rangée horizontale, on met la Triméthoprine à des concentrations croissantes en progression géométrique de raison 2 telles que 0 $\mu\text{g/ml}$ pour la première rangée, 0,25 $\mu\text{g/ml}$ pour la deuxième 0,50 $\mu\text{g/ml}$ pour la troisième, 1 $\mu\text{g/ml}$ pour la quatrième, etc... De la même manière, on place dans les tubes le Gantanol par rangées verticales : pas de Gantanol dans la première rangée,

1 $\mu\text{g/ml}$ dans la deuxième, 2 $\mu\text{g/ml}$ dans la suivante, etc...

Résultats

Les différents résultats que nous avons obtenus sont colligés sur les courbes suivants : Fig. 1 à 8 pour l'étude du pouvoir bactéricide et Fig. 9 pour l'étude de la synergie.

Pour l'étude du pouvoir bactéricide, nous nous sommes contentés de donner nos résultats pour les solutions médicamenteuses préparées dans la proportion de Triméthoprimé/Gantanol = 1 pour 5.

Disons que dans la règle, lorsqu'on considère la proportion 1 pour 10, les résultats ne changent pas notablement ⁽¹⁾. On observe un décalage de un tube environ, de telle sorte que l'association paraît, dans ces conditions, légèrement moins active.

(1) Ainsi le nombre de survivants pour une souche donnée est sensiblement le même dans un tube contenant 1 $\mu\text{g/ml}$ de T. et 4 $\mu\text{g/ml}$ de S. ou dans un tube avec respectivement 1 $\mu\text{g/ml}$ de T. et 9 $\mu\text{g/ml}$ de S.

COMMENTAIRES

1) L'association Gantanol-Triméthoprime semble avoir une activité au moins bactériostatique et, le plus souvent, bactéricide sur la plupart des espèces que nous avons étudiées.

Les deux souches de *pseudomonas aeruginosa* que nous avons testées font toutefois exception. On remarquera en revanche l'activité sur des germes réputés à juste titre pour leur résistance à la plupart des antibiotiques, tels *Moraxella*, *Serratia*, *Enterobacter* ou *Providencia*. Toutes ces bactéries, probablement sélectionnées par les méthodes thérapeutiques modernes, deviennent de plus en plus préoccupantes pour le médecin. On remarquera aussi l'activité bactéricide non négligeable sur *Listeria monocytogènes*. Là encore, on sait qu'avec les thérapeutiques dont nous disposons actuellement il est difficile d'obtenir un pouvoir bactéricide complet dans la plupart des cas. L'association étudiée permet donc d'enrichir l'arsenal thérapeutique dans ce domaine.

2) L'effet bactéricide commence à apparaître avec des concentrations de produits qui varient selon les souches mais qui restent assez faibles (exception faite bien entendu des germes résistants).

En effet, c'est entre 1 et 8 $\mu\text{g/ml}$ de mélange contenant une partie de Triméthoprimé et quatre de Sulfaméthoxazole, soit 0,20 à 1,60 $\mu\text{g/ml}$ de T. et 0,80 à 6,40 $\mu\text{g/ml}$ de S., que l'on voit le nombre de survivants devenir inférieur à l'inoculum ; parfois même, cette concentration bactéricide est inférieure à 1 $\mu\text{g/ml}$ du mélange. Or les études pharmacocinétiques ont montré que pour une posologie quotidienne habituelle de quatre comprimés chez l'adulte (soit 320 mg de T. et 1.600 mg de S.) les taux plasmatiques obtenus sont de l'ordre de 1,5 à 3 $\mu\text{g/ml}$ pour T. et 30 à 80 $\mu\text{g/ml}$ pour S. [21].

3) Quantitativement, en dehors de quelques heuruses exceptions, le nombre de survivants reste généralement, avec la plupart des souches, > 1 pour 10.000 germesensemencés initialement.

On peut estimer que pour éradiquer une infection très grave comme une septicémie et plus particulièrement une endocardite, il faut pouvoir compter sur une bactéricidie laissant moins de 1 pour 10.000 survivants. Ainsi, dans ce genre d'infections, l'association Triméthoprimé-Gantanol n'apparaît-elle pas comme un remède suffisant, au moins dans la majorité des cas. En revanche, dans des infections moins graves, telles que des pyélonéphrites, des cystites, des bronchites chroniques, des pyodermites, etc..., la bactéricidie obtenue apparaît plus acceptable et autorise des espoirs thérapeutiques.

4) On peut remarquer que les survivants subsistent à des concentrations très élevées de produits :

128 $\mu\text{g/ml}$ ne suffisent pas à les détruire. Il serait très important de connaître le devenir de ces survivants *in vitro* et surtout *in vivo*.

5) L'étude des relations mutuelles des deux composants de l'association, permet encore de faire les commentaires suivants :

a) Sur les souches que nous avons étudiées, il paraît évident que la Triméthoprine a une activité dans l'ensemble supérieure au Gantanol. Les concentrations actives de la première sont d'une part, très inférieures à celles de la seconde. On voit aussi que nos courbes d'activité analogue ont une tendance à l'horizontalité et non à la verticalité ce qui traduit la même supériorité.

b) Il est bien évident dans ces conditions que l'adjonction de Triméthoprine à une solution de Gantanol permet d'accroître notablement l'activité du sulfamide sur la plupart des souches.

c) A l'inverse, l'adjonction de Gantanol n'améliore pas constamment l'activité de la Triméthoprine. Toutefois avec certaines souches (Fig. 9 : A, B, C), on trouve un effet réciproque qui se traduit graphiquement par des courbes obliques. Ici l'adjonction d'un produit à l'autre permet une meilleure activité que lorsque ce dernier est testé isolément et réciproquement. On voit par exemple qu'avec ces trois souches, l'adjonction de 8, 16 ou 32 $\mu\text{g/ml}$ de Gantanol à une quantité donnée de Triméthoprine permet d'obtenir des activités analogues à celle provoquée par une

concentration de Triméthopprime seule quatre fois supérieure ou même davantage. La réciproque est vraie également. Aussi, croyons-nous, sur ces trois souches que les deux composants de l'association agissent en synergie.

d) Sur les cinq autres souches testées, en revanche, un tel effet de synergie n'a pas pu être observé. Notons toutefois que nous n'avons pas vu non plus d'antagonisme.

TABLEAU 1

Origine, inoculum exact et antibiogramme des souches microbiennes utilisées (Gram positif)

N ^{os}	Espèce microbienne	Origine	Pen. G	Méth.	Céphal.	Strepto.	Kana.	Genta.	Tétra.	Erythro.	Spira.	Chloran.	Rifa.	Pristin.
1	Staphylocoque doré	Septicém.	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S
2	»	Septicém.	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	S	S
3	»	Septicém.	R	S	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
4	»	Septicém.	R	S	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
5	»	Septicém.	R	S	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
6	»	Abcès	R	S	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
7	»	Septicém.	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
8	»	Septicém.	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
9	»	Septicém.	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
10	»	Septicém.	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
11	»	Septicém.	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
12	»	Septicém.	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S
13	»	Pleurésie	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
14	»	Inf. urin.	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S
15	Staphyloc. blanc	Septicém.	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
16	Entérocoque	Inf. urin.	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
17	»	Septicém.	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S
18	Listéria Monocyt.	Méningite	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
19	»	Méningite	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
20	»	Méningite	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S = Sensible — R = Résistant

TABLEAU 1 (suite) Gram négatif

N°	Espèce microbienne	Origine	Ampicill.	Céphal.	Strept.	Kana.	Genta.	Tétra.	Chloran.	Colistine
21	Bordetella-bronchis.	Bronchite	R	R	R	S	S	*	S	S
22	Pseudom. aeruginosa	Méningite	R	R	R	R	S	R	R	S
23	»	Septicémie	R	R	R	R	S	R	R	S
24	Serratia	Bactériémie	R	R	R	R	S	R	R	R
25	»	Bactériémie	R	R	R	R	S	R	R	R
26	»	Bactériémie	R	R	R	R	S	R	R	R
27	»	Bactériémie	R	R	R	R	S	R	R	R
28	Protéus-mirabilis	Inf. urin.	R	S	S	S	S	R	S	R
29	Protéus-hauseri	Inf. urin.	R	R	R	S	S	R	S	R
30	Protéus morgagni	Inf. urin.	R	R	S	S	S	S	R	R
31	Protéus rettgeri	Septicémie	R	R	S	S	S	R	S	R
32	Entérobacter aerog.	Inf. urin.	R	R	R	R	S	S	R	S
33	»	Inf. urin.	R	R	R	S	S	R	R	S
34	» cloac.	Inf. urin.	R	R	R	S	S	R	R	S
35	»	Inf. urin.	R	R	R	S	S	R	R	S
36	E. Coli	Inf. urin.	S	S	S	S	S	S	S	S
37	»	Inf. urin.	S	S	S	S	S	S	S	S
38	»	Inf. urin.	S	S	S	S	S	S	S	S
39	»	Inf. urin.	R	R	R	R	S	R	S	S
40	»	Inf. urin.	R	R	R	S	S	S	S	S

S = Sensible R = Résistant * = non testé

TABLEAU 1 (suite) Gram négatif

N°	Espèce microbienne	Origine	Ampicil.	Céphal.	Strept.	Kana.	Genta.	Tétra.	Chloran.	Colistine
41	<i>Klebsiella</i>	Septicémie	R	R	R	S	S	S	S	S
42	»	Inf. urin.	R	S	S	S	S	S	S	S
43	»	Inf. urin.	R	R	S	S	S	R	S	S
44	»	Inf. urin.	R	S	S	S	S	R	S	S
45	»	Inf. urin.	R	R	S	S	S	S	S	S
46	»	Inf. urin.	R	S	S	S	S	R	R	S
47	<i>Moraxella glucido.</i>	Inf. bronc.	R	R	R	R	R	R	R	R
48	»	Inf. bronc.	S	S		S	S	S	S	S
49	<i>Salmonella</i> bov. mortificans	Diarrhée	R	S	S	S	S	S	S	S
50	<i>Salmonella</i> panama	Diarrhée	R	R	S	R	S	R	R	S
51	<i>Salmonella</i> typhi-murium	Diarrhée	S	S	S	S	S	S	S	S
52	»	Fièvre typh.	S	S	S	S	S	S	S	S
53	»	Fièvre typh.	S	S	S	S	S	S	S	S
54	<i>Providencia</i>	Surinfect. de mala-	R	R	R	R	R	R	R	R
55	»	des hospitalisés	R	R	R	R	R	R	R	R
56	»	en réanimation	R	R	R	R	R	R	R	R
57	»		R	R	R	R	R	R	R	R
58	»		R	R	R	R	R	R	R	R

Légende des figures 1 à 8

Les figures 1 à 8 indiquent le nombre de germes survivants en fonction de la concentration en $\mu\text{g/ml}$ du mélange de T. et S. dans le rapport 1 à 4. L'efficacité est appréciée par rapport au tube témoin, sans produits actifs, qui a reçu le même inoculum, indiqué pour chaque souche, et contient après 18 heures à 37° environ 10^9 bactéries par ml.

1) En cas d'inefficacité complète, la multiplication des bactéries est analogue dans les tubes contenant le mélange T. + S. aux différentes concentrations et dans le tube témoin : la couche est horizontale.

2) L'effet produit est bactériostatique lorsque le nombre de germes survivants égale celui de l'inoculum.

3) La bactéricidie, plus ou moins complète, est obtenue lorsque le nombre de germes est inférieur à celui de l'inoculum.

La figure A indique les différentes possibilités.

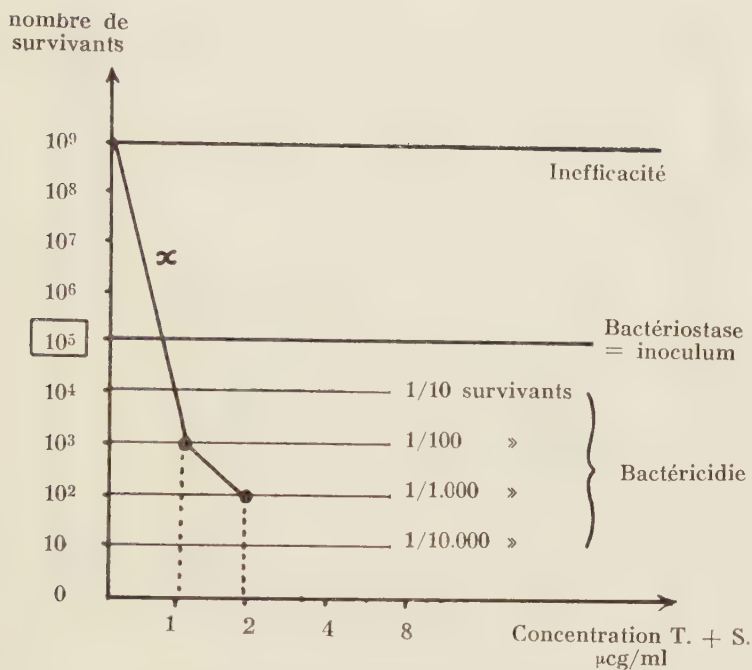


FIG. A. — Exemple : souche x. Inoculum 10⁵

Pour la souche X on obtient :

- une bactéricidie avec 1/100 survivant en présence de 1 µg/ml,
- une bactéricidie avec 1/1000 survivant en présence de 2 µg/ml.

N.B. — Les réascensions observées avec certaines souches à des concentrations plus élevées sont vraisemblablement en rapport avec le mécanisme de résistance des germes survivants qui n'a pu faire l'objet de notre étude.

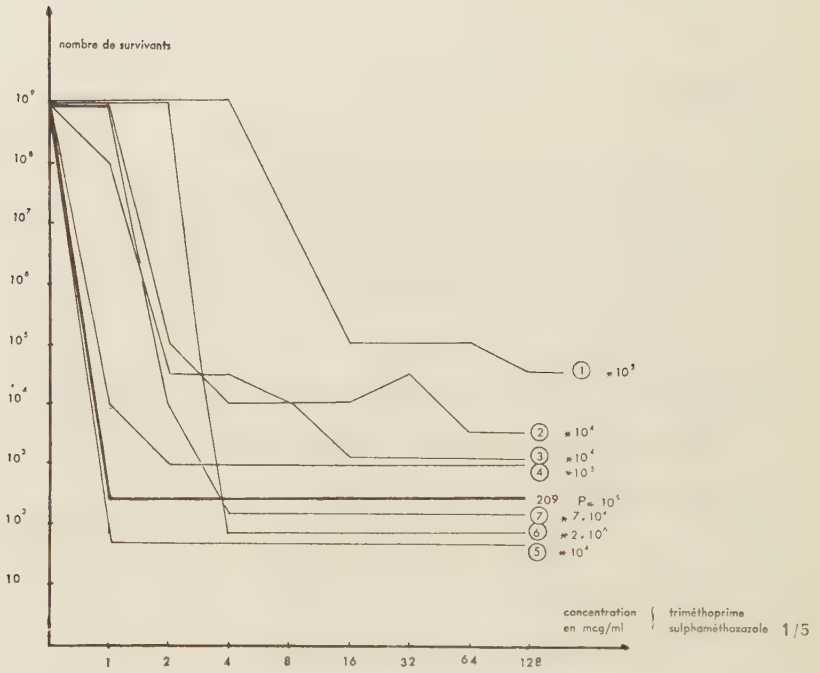


FIG. 1

Souches 1 à 7 et 209 P (souche référence)
Staphylocoques dorés (* = inoculum/ml)

Souche N°	1	inoculum	10^3
—	2	—	10^4
—	3	—	10^4
—	4	—	10^5
—	209 P	—	10^5
—	7	—	$7 \cdot 10^4$
—	6	—	$2 \cdot 10^5$
—	5	—	10^4

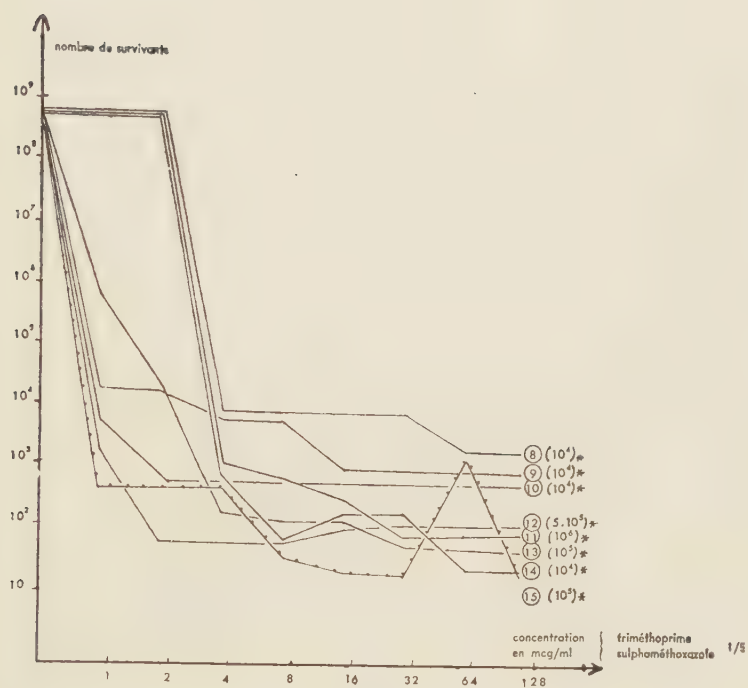


FIG. 2

Staphylocoques dorés 8 à 14

Staphylocoques blancs 15

(* = inoculum)

Souche N°	8	inoculum	10^4
—	9	—	10^4
—	10	—	10^4
—	12	—	$5 \cdot 10^5$
—	11	—	10^6
—	13	—	10^5
—	14	—	10^4
—	15	—	10^5

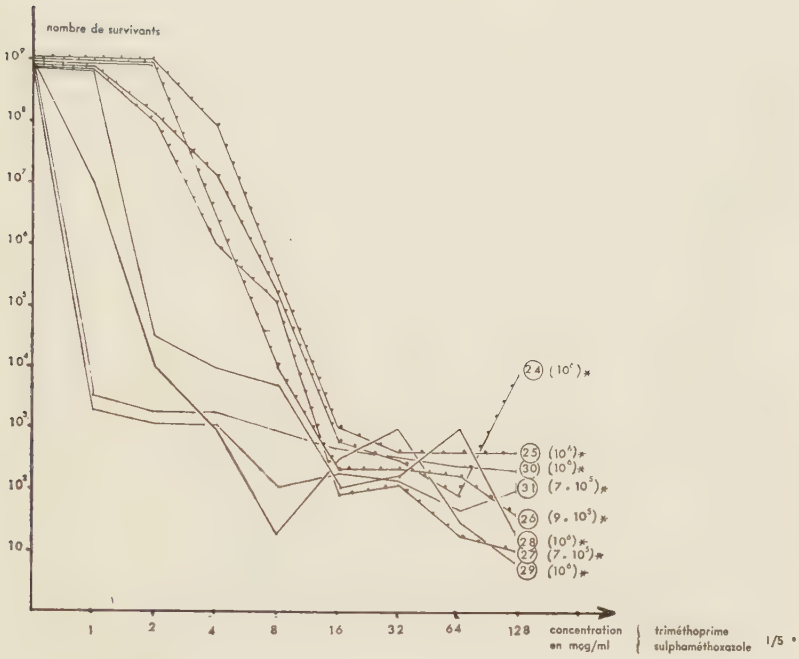


FIG. 4

Serratia

souches 24 à 27

Proteus

souches 28 à 31

(* = inoculum)

Souche N°	24	inoculum	10 ⁶
—	25	—	10 ⁶
—	30	—	10 ⁶
—	31	—	7.10 ⁵
—	26	—	9.10 ⁵
—	28	—	10 ⁶
—	27	—	7.10 ⁵
—	29	—	10 ⁶

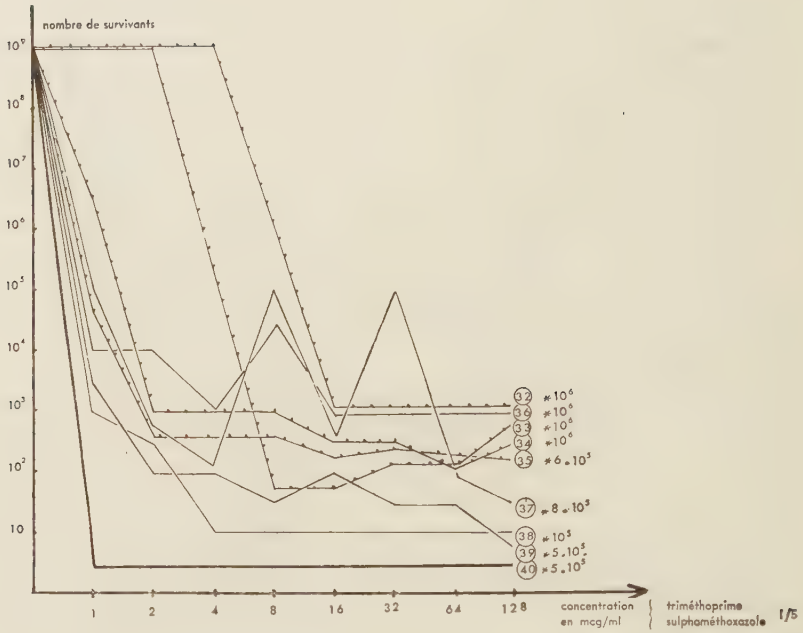


FIG. 5

Enterobacter aerogenes souches 32 et 33
Enterobacter cloacae souches 34 et 35
Escherichia coli souches 36 à 39
Escherichia coli K 12 sauvage souche 40
 (* = inoculum)

Souche	N°	inoculum
—	32	10^6
—	36	10^6
—	33	10^6
—	34	10^6
—	35	6.10^5
—	37	8.10^5
—	38	10^5
—	39	5.10^5
—	40	5.10^5

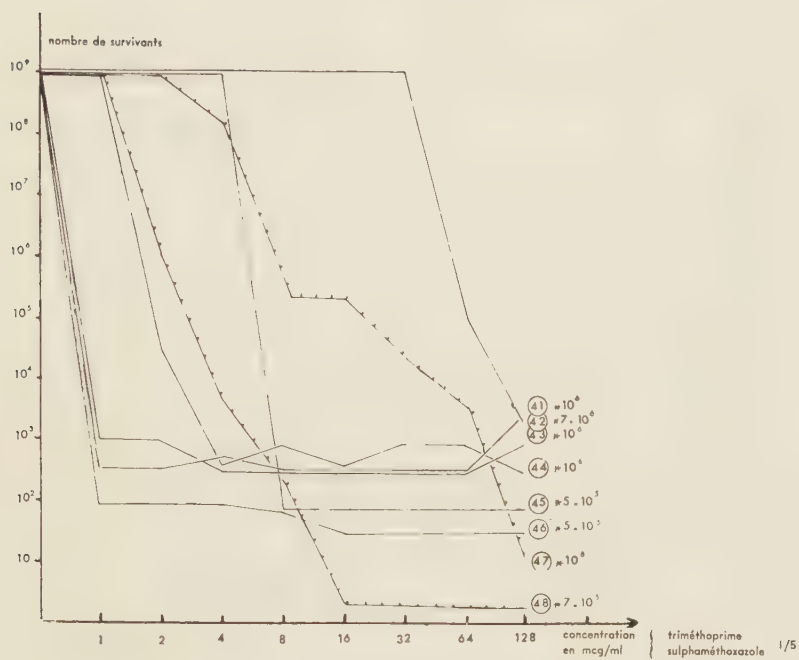


FIG. 6

Klebsiella

souches 41 à 46

Moraxella

souches 47 et 48

(* = inoculum)

Souche N°	41	inoculum	10 ⁶
—	42	—	7.10 ⁶
—	43	—	10 ⁶
—	44	—	10 ⁶
—	45	—	5.10 ⁵
—	46	—	5.10 ⁵
—	47	—	10 ⁶
—	48	—	7.10 ⁵

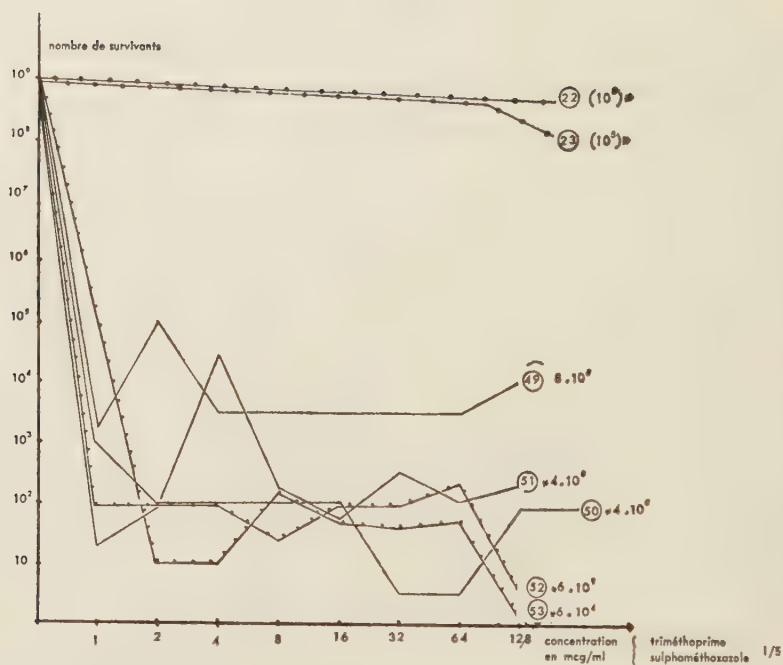


FIG. 7

Pseudomonas aeruginosa souches 22 et 23
Salmonella bovis mortificans souche 49
Salmonella panama souche 50
Salmonella typhi-murium souche 51
Salmonella typhi souches 52 et 53
 (* = inoculum)

Souche N°	22	inoculum	10 ⁵
—	23	—	10 ⁵
—	49	—	8.10 ⁵
—	51	—	4.10 ⁵
—	50	—	4.10 ⁵
—	52	—	6.10 ⁵
—	53	—	6.10 ⁴

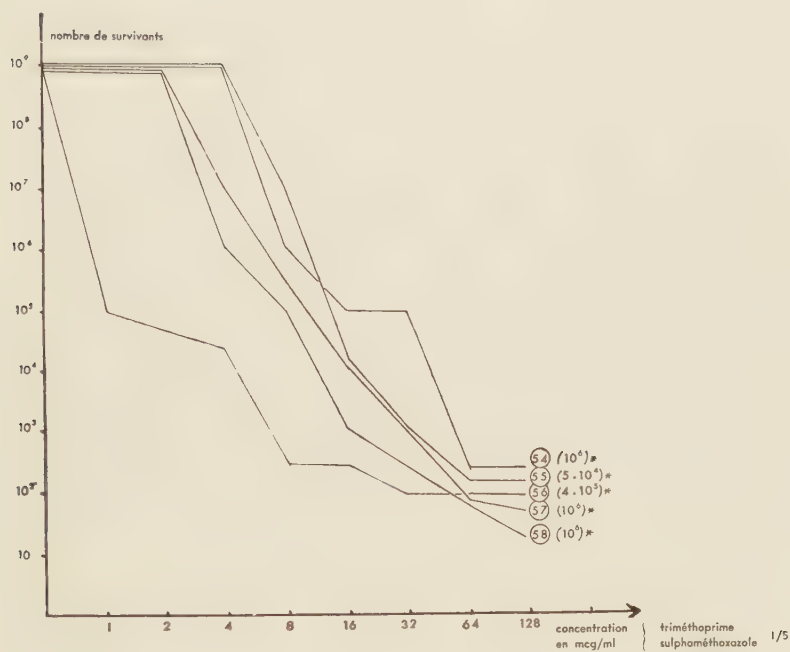


FIG. 8

Providencia souches 54 à 58
(* = inoculum)

Souche	N°	54	inoculum	10 ⁶
—	55	—	5 · 10 ⁴	
—	56	—	4 · 10 ⁵	
—	57	—	10 ⁶	
—	58	—	10 ⁶	

Légende des figures 9 a à 9 h

Les résultats de l'étude de la synergie des deux composants de l'association ont été exprimés en courbe d'activité analogue. Chacune des courbes a, b, c, d, e des figures 9 relie les points correspondant aux tubes dans lesquels le nombre de survivants est le même. En abscisse et en ordonnée sont indiquées respectivement les concentrations de Triméthoprine et de Sulfaméthoxazole. Ainsi lorsque T. est seule active, la courbe est-elle parallèle à l'axe indiquant les concentrations de S. qui, si élevées soient-elles, ne modifient pas la bactéricidie. Quand il existe une synergie, la présence de S. apporte la même bactéricidie avec des quantités inférieures de T. et la courbe d'activité analogue s'infléchit vers l'axe où sont indiquées les concentrations de T.

La figure B, où chaque case correspond à un tube avec le nombre de germes survivants qui ont pu y être dénombrés à la fin de l'expérience, explique les courbes représentées sur les figures 9.

Concentration de
Triméthoprim
en $\mu\text{g/ml}$

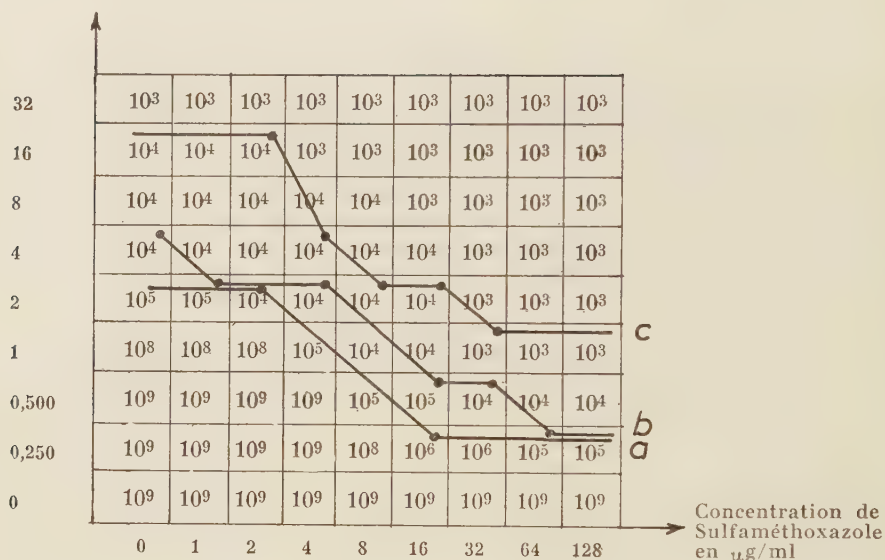


FIG. B

Exemple de courbe d'activité analogue
obtenue avec la souche N° 4 (voir Fig. 9 a)

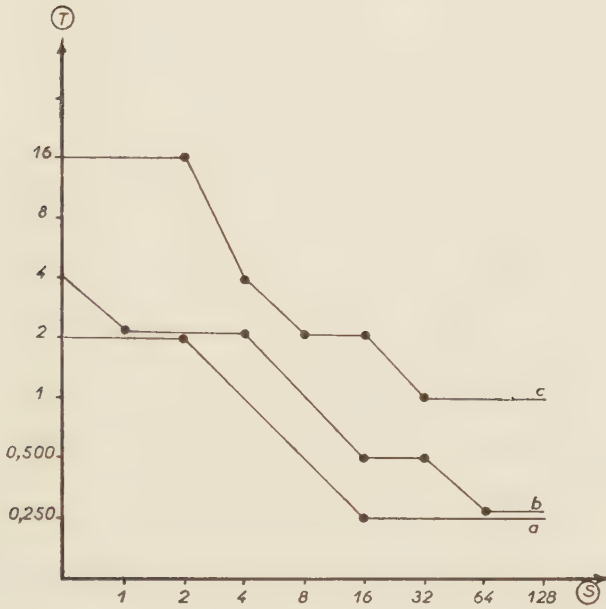


FIG. 9 a

S = concentration de sulphamethoxazole μ g/ml
T = concentration de trimethoprim en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

- courbe a : $1/10$ tube témoin $\geq n \geq$ inoculum
- courbe b : inoculum $> n \geq 0,1$ inoculum
- courbe c : $0,1$ inoculum $> n \geq 0,01$ inoculum
- courbe d : $0,01$ inoculum $> n \geq 0,001$ inoculum

Staphylocoque doré n° 4 - inoculum 2.10^5 /ml

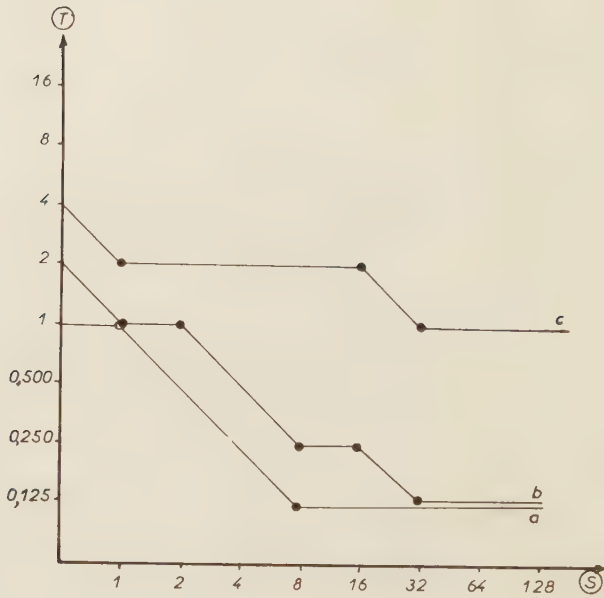


FIG. 9 b

S = concentration de sulphamethoxazole μ g/ml

T = concentration de trimethoprim en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

courbe a : $1/10$ tube témoin $\geq n \geq$ inoculum

courbe b : inoculum $> n \geq 0,1$ inoculum

courbe c : $0,1$ inoculum $> n \geq 0,01$ inoculum

courbe d : $0,01$ inoculum $> n \geq 0,001$ inoculum

Staphylocoque doré n° 9 - inoculum 10^5 /ml

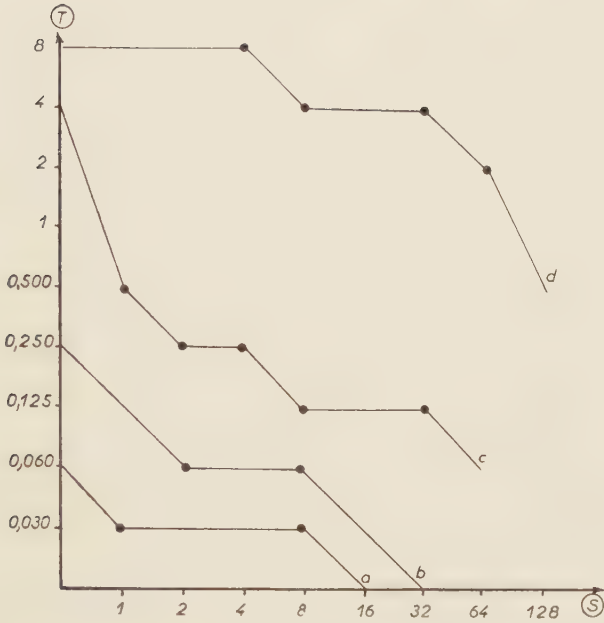


FIG. 9 c

S = concentration de sulphamethoxazole μ g/ml
T = concentration de trimethoprim en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

- courbe a : $1/10$ tube témoin $\geq n \geq$ inoculum
- courbe b : inoculum $> n \geq 0,1$ inoculum
- courbe c : $0,1$ inoculum $> n \geq 0,01$ inoculum
- courbe d : $0,01$ inoculum $> n \geq 0,001$ inoculum

Listeria monocytogenes n° 18 - inoculum $4 \cdot 10^4$

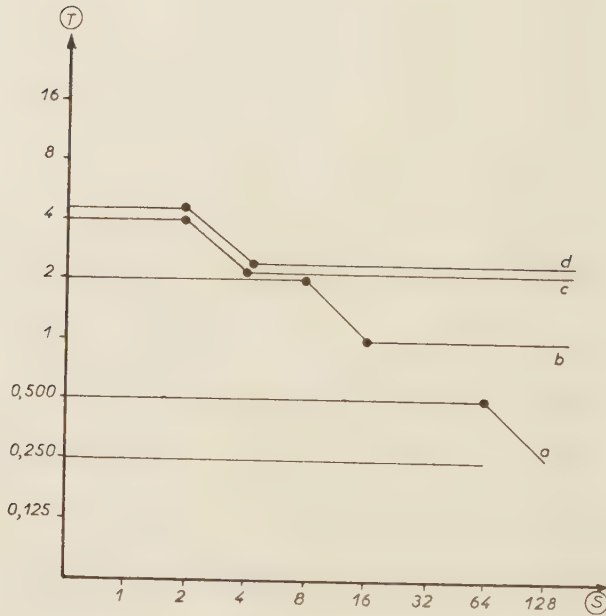


FIG. 9 d

S = concentration de sulphamethoxazole μ g/ml
T = concentration de trimethoprim en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

courbe a : $1/10$ tube témoin $\geq n \geq$ inoculum

courbe b : inoculum $> n \geq 0,1$ inoculum

courbe c : $0,1$ inoculum $> n \geq 0,01$ inoculum

courbe d : $0,01$ inoculum $> n \geq 0,001$ inoculum

Enterobacter cloacae n° 34 - inoculum 5.10^5

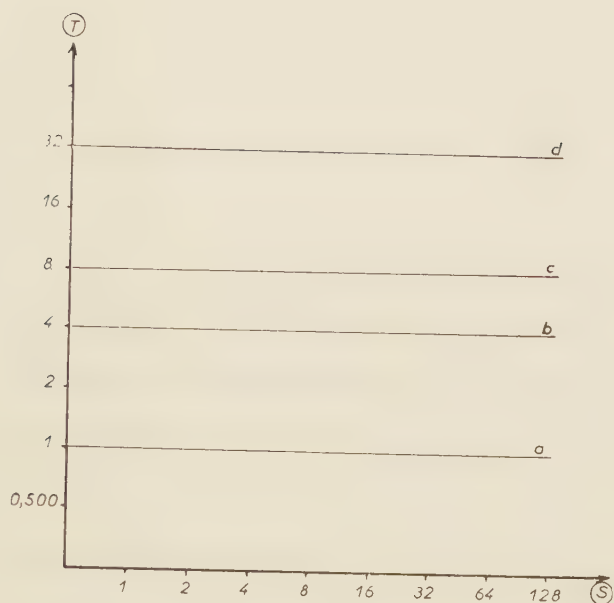


FIG. 9 e

S = concentration de sulphamethoxazole μ g/ml

T = concentration de trimethoprim en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

courbe a : $1/10$ tube témoin $\geq n \geq$ inoculum

courbe b : inoculum $> n \geq 0,1$ inoculum

courbe c : $0,1$ inoculum $> n \geq 0,01$ inoculum

courbe d : $0,01$ inoculum $> n \geq 0,001$ inoculum

Providencia n° 56 - inoculum 5.10^5 /ml

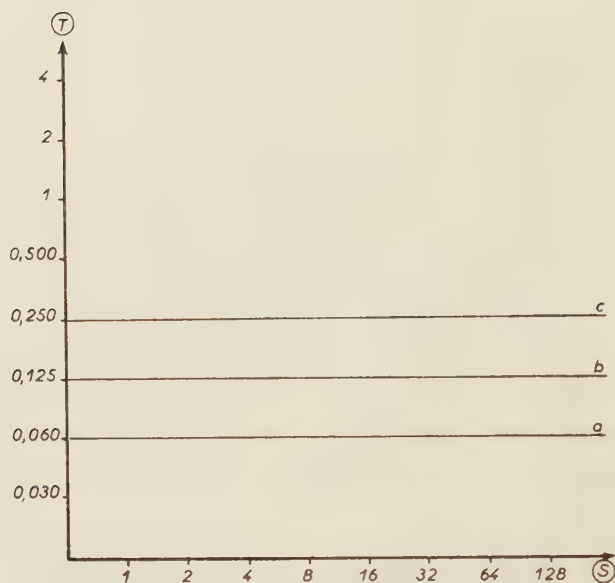


FIG. 9 f

S = concentration de sulphonamethoxazole μ g/ml
T = concentration de trimethoprim en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

courbe a : $1/10$ tube témoin $\geq n \geq$ inoculum

courbe b : inoculum $> n \geq 0,1$ inoculum

courbe c : $0,1$ inoculum $> n \geq 0,01$ inoculum

courbe d : $0,01$ inoculum $> n \geq 0,001$ inoculum

Salmonella panama n° 50 - inoculum 2.10^5 /ml

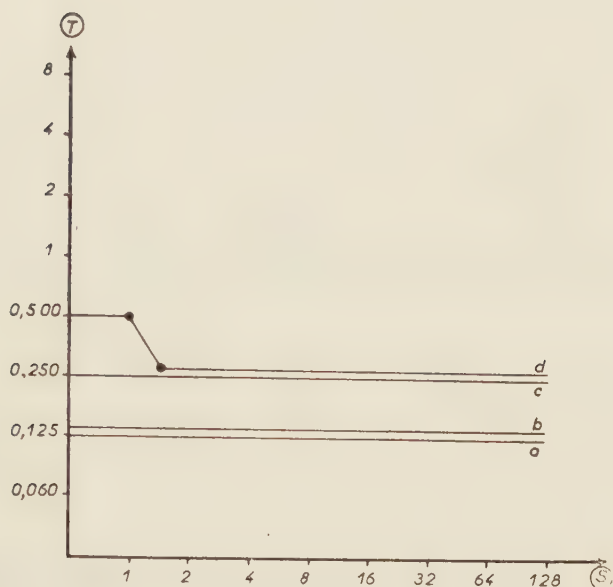


FIG. 9 g

S = concentration de sulphamethoxazole μ g/ml
 T = concentration de trimethoprime en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

- courbe a : $1/10 \text{ tube témoin} \geq n \geq \text{inoculum}$
- courbe b : $\text{inoculum} > n \geq 0,1 \text{ inoculum}$
- courbe c : $0,1 \text{ inoculum} > n \geq 0,01 \text{ inoculum}$
- courbe d : $0,01 \text{ inoculum} > n \geq 0,001 \text{ inoculum}$

E. coli n° 38 - inoculum $2.10^5/\text{ml}$

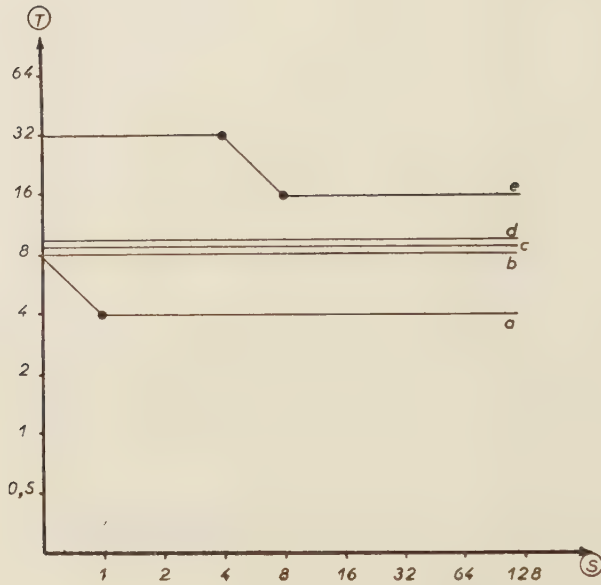


Fig. 9 h

S = concentration de sulphamethoxazole μ g/ml
T = concentration de trimethoprim en μ g/ml

Les courbes correspondent aux premiers tubes dans lesquels le nombre n de survivants est égal à :

- courbe a : $1/10$ tube témoin $\geq n \geq$ inoculum
- courbe b : inoculum $> n \geq 0,1$ inoculum
- courbe c : $0,1$ inoculum $> n \geq 0,01$ inoculum
- courbe d : $0,01$ inoculum $> n \geq 0,001$ inoculum
- courbe e : $0,001$ inoculum $> n \geq 0,0001$ inoculum

Klebsiella n° 46 - inoculum 5.10^5 /ml

CONCLUSIONS

L'association d'une diaminopyrimidine, la Triméthoprime, avec un sulfamide, le Gantanol, a été étudiée *in vitro* sur 56 souches microbiennes hospitalières et 2 souches de référence dans le but d'apprécier l'effet bactéricide obtenu et de rechercher l'existence d'une synergie d'action.

Les travaux antérieurs cités concernent essentiellement l'activité bactériostatique de l'association. La bactéricidie nous paraît indispensable pour qu'une chimiothérapie soit efficace en pathologie infectieuse.

Les souches étudiées comprenaient : Staphylocoques dorés, Entérocoques, *Listeria*, Colibacilles, *Proteus*, *Providencia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Serratia*, *Moraxella*, *Bordetella bronchiseptica* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Si l'on fait exception des *Pseudomonas*, nous avons observé dans la plupart des cas une bactéricidie avec un nombre de survivants généralement compris entre le dixième et le millième de l'inoculum initial. Cette bactéricidie notable, en particulier sur des germes tels que *Serratia*, *Enterobacter* ou *Providencia* autorise des espoirs thérapeutiques. Elle est cependant insuffisante pour le traitement d'infections très graves, d'états septicémiques.

En ce qui concerne le rôle de chacun des deux composants dans l'association, nous retiendrons :

1) que la Triméthoprine a une activité supérieure à celle du Gantanol ;

2) que son adjonction au Gantanol en accroît notablement l'activité ;

3) alors que l'adjonction de Gantanol n'améliore pas constamment l'activité de la Triméthoprine.

Cependant nous avons observé une synergie d'action entre les deux produits sur certaines souches, en particulier de Staphylocoque doré et de Listeria.

Le Président de Thèse

Prof. D. CHRISTOL

Le Recteur

R. MALLET

Le Doyen honoraire

Administrateur provisoire

de la Faculté de Médecine

G. BROUET

BIBLIOGRAPHIE

- [1] HITCHINGS G.H., ELION G.B. et coll. — Pyrimidine derivatives as antagonists of pteroylglutamic acid. *J. Biol. Chem.*, 174 (765-6), 1948.
- [2] HITCHINGS G.H., FALCO E.A. et coll. — 2-4-diaminopyrimidines as antagonists of folic acid and folinic acid. *Arch. Biochem. Biophys.*, 40 (479-81), 1952.
- [3] HITCHINGS G.H., BUSHBY S.R.M. — 5-benzyl 2-4-diaminopyrimidines, a new class of systemic antibacterial agents. 5th Intern. Congress Biochem. Moscou (165), 1961.
- [4] NOALL E.W.P., SEWARDS H.F.G. et coll. — Successful treatment of a case of proteus septicaemia. *Brit. Med. J.*, 2 (1101-2), 1962.
- [5] ROTH B., FALCO E.A. et coll. — 5-benzyl 2-4-diaminopyrimidines as antibacterial agents. I - Synthesis and antibacterial activity in vitro. *J. Med. Pharm. Chem.*, 5 (1103-23), 1962.
- [6] JUKE T.H., BROQUIST H.P. — Sulfonamides and folic acid antagonists. Metabolic inhibitors, 1^{re} éd., 1 vol. (481). Hoechst ed., New York 1963.
- [7] HITCHINGS G.H., HERRMANN T.A. et coll. — 2-4-diaminopyrido-(2-3-d) pyrimidines : a new group of antibacterial agents. Proc. 3rd Intern. Congress Chemoth. Stuttgart (1363), 1964.
- [8] ZBINDEN B. — Molecular modifications in the development of newer anti-infective agents. Molecular modifications in Drug Design, 1 vol. (25). Gould ed., Washington 1964.

- [9] COOPER R.G., WALD M. — Successful treatment of proteus septicaemia with a new drug, trimethoprim. *Med. J. Aust.* (93-6), 1964.
- [10] HITCHINGS G.H., BURCHALL J.J. — Inhibition of folate biosynthesis and function as a basis for chemotherapy. *Advances in Enzymology*, 1 vol. (417-68), Nord F.F. éd., 1965.
- [11] SCHNEIDER M., SCHWARZENBERG L. et coll. — Essai de traitements de diverses infections à proteus par le 2, 4 - diamino - 5 (3, 4, 5), trimethoxybenzyl - pyrimidine ou (trimethoprime). *Presse Méd.*, 73 (893-94), 1965.
- [12] DREW C.D.M., HUGUES D.I.D. et coll. — Effective treatment of chronic bronchitis with short-term trimethoprim and sulfamethoxazole. *Proc. 5th Intern. Congress Chemoth. Vienna*, vol. I (293-6), juin-juill. 1967.
- [13] GANOD L.P., WATERWORTH P.M. — The antibacterial action of trimethoprim. *Proc. 5th Intern. Congress Chemoth. Vienna*, vol. I (747-51), juin-juill. 1967.
- [14] BUSHBY S.R.M., BARNETT M. — Trimethoprim-sulphonamides in vitro sensitivity of 384 strains of bacteria. *Proc. 5th Intern. Congress Chemoth. Vienna*, vol. I (753-7), juin-juillet 1967.
- [15] DREW C.D.M., HUGUES D.I.D. et coll. — Long term treatment of chest infections with a combination of trimethoprim and a sulphonamide. A study of the clinical bacteriological and hematological effects. *Proc. 5th Intern. Congress Chemoth. Vienna*, vol. V suppl. (107), 1967.
- [16] SOURANDER L.B., WERNER G.E. — Efficacy and tolerance of sulphonamide-trimethoprim combination in geriatric patients with bactiuria. *Proc. 5th Intern. Congress Chemoth. Vienna*, vol. V (17), juin-juillet 1967.

- [17] KNIGHT G.J. — Kinetic studies with a trimethoprim-sulphonamide combination. Proc. 5th Intern. Congress Chemoth. Vienna, vol. I (375-8), juin-juill. 1967.
- [18] CZOUKA G.J. — Therapeutic trial of trimethoprim as a potentiator of sulphonamides in gonorrhoea. *Brit. J. Vener. Dis.*, 43 (161-5), 1967.
- [19] BUSHBY S.R.M., HITCHINGS G.H. — Trimethoprim : a sulphonamide potentiator. *Brit. J. Pharmacol. Chemoth.*, 33 (72-90), 1968.
- [20] DARELL J.H., GANOD L.P. et coll. — Trimethoprim : laboratory and clinical studies. *J. Clin. Path.*, 21 (209-9), 1968.
- [21] BECK H., PÉCHÈRE J.C. — Combination of trimethoprim with sulphametoxazol : pharmacodynamic activity in man. 6th International Congress of Chemotherapy. Tokyo 1969 (à paraître).

TABLE DES MATIERES

Introduction	11
Matériel et méthode	13
1) Les souches microbiennes	13
2) L'association médicamenteuse	13
3) Le milieu de culture	14
4) Préparation des inoculums	15
5) Préparation des tubes	16
6) Numération des bactéries	16
7) Etude du pouvoir bactéricide	17
8) Appréciation de la synergie des deux consti- tuants Triméthoprine et Gantanol	17
Résultats	18
Commentaires	19
Conclusions	47
Bibliographie	49

Librairie ARNETTE à Paris

N° édition 89/1970

Imp. Bosc Frères, Lyon - Dépôt légal n° 4924 - 1^{er} trimestre 1970

